

## 熊本大学学術リポジトリ

### Kumamoto University Repository System

Title	自然免疫系を活性化し、抗エイズ効果を持つ漢方薬のスクリーニング
Author(s)	岡田, 誠治
Citation	
Issue date	2007
Type	Research Paper
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2298/10910">http://hdl.handle.net/2298/10910</a>
Right	

## 自然免疫系を活性化し、抗エイズ効果を持つ漢方薬のスクリーニング

熊本大学エイズ学研究センター予防開発分野

岡田 誠治

### 【緒言】

世界三大感染症の一つである AIDS は、現在世界で 3,300 万人の感染者がおり、年間新たに 250 万人が感染し、210 万人が死亡している<sup>1)</sup>。また、本邦においても HIV-1 感染者は増加の一途をたどっている<sup>2)</sup>。近年、新たな抗 HIV-1 薬の開発と多剤併用療法の普及により HIV-1 感染者の予後は劇的に改善している。しかしながら、現在使用されている抗 HIV-1 薬は HIV-1 の生活環に有効なものであり、潜伏感染には全く効果がない。そのため、薬剤による HIV-1 の生体内からの完全な排除は極めて困難であり、異なる作用機所を有する新たな抗 HIV-1 薬の開発が望まれる。

漢方薬は比較的副作用が少なく長期投与が可能なことから、現在様々な疾患に使われている<sup>3)</sup>。抗 HIV-1 効果についてもいくつかの知見が得られているが臨床応用には至っていない<sup>4) 5)</sup>。そこで本研究においては、様々な漢方薬の HIV-1 潜伏感染細胞に対する効果について解析した。

### 【方法】

**HIV-1 の活性化：**HIV-1 潜伏感染細胞である U1 細胞に様々な漢方薬を添加後、細胞内 p24 の発現をフローサイトメトリーで確認することにより、これらの漢方薬の HIV-1 に対する効果を確認した。漢方薬は、小柴胡湯、麻黄湯、補中益気湯、十全大補湯、人参養栄湯を使用した。また、麻黄湯の構成成分である麻黄、杏仁、桂枝、甘草を用いた。これらの薬品はツムラより提供を受けた。漢方薬と TNF- $\alpha$  の存在、非存在下で U1 細胞を 24 時間培養後、FITC 標識抗 p24 抗体 (Beckman-Coulter 社) で定法通り染色しフローサイトメトリーを用いて発現細胞の割合を解析した<sup>6)</sup>。

**NF- $\kappa$ B 活性化：**麻黄湯及び麻黄のよる NF- $\kappa$ B の活性化をウエスタンブロット法とプロモーター解析により確認した。ウエスタンブロット法では、抗 NF- $\kappa$ B p50 抗体(sc-7396)、抗 NF- $\kappa$ B p65 抗体(sc8008) (Santa Cruz 社) を用いて定法通り行った。プロモーター解析は、Hela 細胞に NF- $\kappa$ B luciferase reporter plasmid (Stratagene 社) と Renilla Luciferase を Hilymax (Dojindo 社) を用いて遺伝子導入し、24 時間後に麻黄湯または麻黄を添加し、更に 5 時間後にルシフェラーゼ活性測定を行った。

### 【結果】

#### HIV-1 潜伏感染細胞 (U1) に対する HIV-1 活性化作用を有する漢方薬の検索

小柴胡湯、麻黄湯、補中益気湯、十全大補湯、人参養栄湯を各々 10 $\mu$ g/ml U1 細胞に

添加し、24 時間後に p24 発現細胞数の割合をフローサイトメトリーで解析した。麻黄湯、補中益気湯、十全大補湯、人参養栄湯で、p24 発現細胞の増加が認められたが (data not shown)、麻黄湯が最も顕著であったため、以後は麻黄湯の検討を行った。

#### 麻黄湯と麻黄による潜伏感染細胞の HIV-1 活性化

麻黄湯による p24 発現細胞の増加は麻黄湯の用量依存性に認められ、その効果は TNF- $\alpha$  添加により増強した (図 1 A, B)。そのため、麻黄湯を構成する成分である麻黄、杏仁、桂枝、甘草の効果を確認したところ、麻黄湯の主成分である麻黄に最も強い HIV-1 活性化作用が認められ (図 1 C)、その効果は用量依存性であることが確認された (図 1 D)。

#### 麻黄湯と麻黄による NF- $\kappa$ B の活性化

HIV-1 の活性化には NF- $\kappa$ B が深く関与していることが知られている。NF- $\kappa$ B は細胞質に存在するが、活性化すると核内に移行する。麻黄湯または麻黄と TNF- $\alpha$  添加後の NF- $\kappa$ B 活性化を核蛋白のウェスタンブロット法により解析したところ、NF- $\kappa$ B の構成蛋白である p65 と p50 の活性化が認められた (図 2 A, B)。また、プロモーター解析においても、麻黄湯または麻黄によるルシフェラーゼ活性の上昇が認められ、特に麻黄単独で強い活性上昇が観察された。

#### 【考察】

本研究により、麻黄湯とその主成分である麻黄は、HIV-1 潜伏感染細胞 U1 において NF- $\kappa$ B 活性化を通して HIV-1 の転写を活性化させることが判明した。現在使用されている抗 HIV-1 薬は潜伏感染には無効であるが、麻黄湯の併用により潜伏感染細胞中の HIV-1 を活性化することで潜伏感染細胞の除去が可能になることが期待できる<sup>7)</sup>。

#### 【謝辞】

本研究は、熊本大学医学薬学研究部遺伝子応用機能学甲斐広文教授との共同研究で行われた。研究は、村上徹博士、Mary Ann Suico 博士、原田英樹博士、鈴伸也博士の協力により行われた。研究に使用された漢方薬は (株) ツムラより提供を受けた。本研究は、日本漢方医学研究所助成金により行われた。

#### 【文献】

- 1) 2008 Report on the global AIDS epidemic. UNAIDS.
- 2) 平成 19 年エイズ発生動向年報. エイズ動向委員会.
- 3) Ikegami F, Fujii Y, Satoh T. Toxicological consideration of Kampo medicines in clinical use. Toxicology 198;221-228,2004
- 4) Buimovici-Klein E, Mohan V, Lange M, Fenamore E, Inada Y, Cooper LZ. Inhibition of HIV replication in lymphocyte cultures of virus-positive subjects in

the presence of Sho-saiko-to, an oriental plant extract. *Antiviral Res.* 14;279-286, 1990.

- 5) Inada Y, Watanabe K, Kamiyama M, Kanemitsu T, Clark WS, Lange M. In vitro immunomodulatory effects of traditional Kampo medicine (Sho-saiko-to: SST) on peripheral mononuclear cells in patients with AIDS. *Biomed & Pharmacother* 44;17-1990.
- 6) Harada H, Goto Y, Ohno T, Suzu, S, and Okada S; Proliferative activation up-regulates the expression of HIV-1 receptors on NK cells and induces HIV-1 infection of NK cells. *Eur J Immunol* 37: 2148-2155, 2007
- 7) Murakami T, Harada H, Suico MA, Shuto T Suzu S, Kai H, and Okada S; Ephedrae herba, a component of Japanese herbal medicine *Mao-to*, efficiently activates the replication of latent HIV-1 in a monocytic cell line. *Biol Pharm Bull* in press

図1. 麻黄湯と麻黄によるHIV-1の活性化

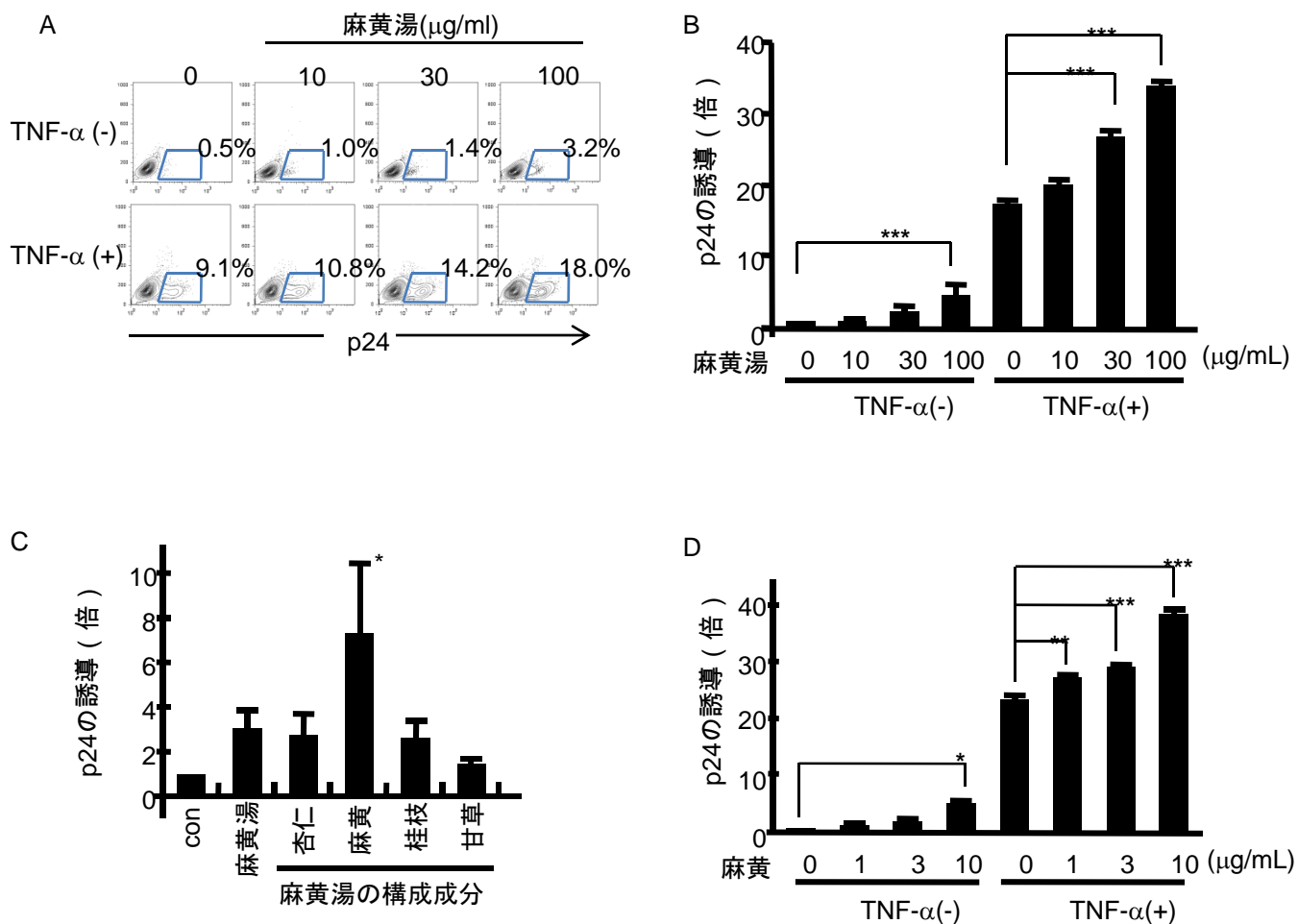


図2. 麻黄湯と麻黄によるNF- $\kappa$ Bの活性化

